HP 434-91795
0108 D1

Wako

NEFA-HR(2)

!Lea atentamente estas instrucciones!

CE

Método ACS-ACOD

Para el análisis cuantitativo de los Ácidos Grasos Libres (NEFA) en Suero

Uso previsto

El kit Wako NEFA-HR(2) es un test colorimétrico enzimático para el análisis cuantitativo *in vitro* de los ácidos grasos libres (NEFA) en el suero.

Resumen y explicación del test

En el suero, los ácidos grasos libres unidos a la albúmina (NEFA) son un proveedor importante de energía para el tejido periférico. La concentración de NEFA en el suero está equilibrada entre la absorción del hígado y del tejido periférico y su liberación por el tejido adiposo. El contenido de NEFA se reduce por los esfuerzos físicos, pero se eleva en las dietas, enfriamientos, situaciones de pánico o estrés y en los fumadores.
Subidas y bajadas de estos valores se observan también en diabetes y en enfermedades hepáticas o endocrinas.
Inicialmente NEFA se determinaba con un método de extracción, difícil de realizar al usar disolventes orgánicos. Por esta razón en la rutina se una el método enzimático con acil-CoA-oxidasa (ACOD) debido a la excelente especificidad y su precisa ejecución. NEFA-HR(2) es un kit de reactivos para analizar los ácidos grasos libres basándose en la reacción enzimática con 3-metil-N-etil-N-(β-hidroxietilo)-anilina (MEHA) que presenta una absorción violeta colorimétrica, consiguiéndose unos precisos resultados con ausencia de interferencias debidas al ácido ascórbico o a la bilirrubina.

Principio del test

Los ácidos grasos no esterificados (NEFA) de la muestra, por la acción de la sintetasa de acil-CoA (ACS), se transforman en acil-CoA, AMP y ácido fosfórico (PPi) bajo la modulación del coenzima A (CoA) y la adenosina-5-trifosfato-sal disódica (ATP).
Por la acción de la acil-CoA-oxidasa (ACOD), la acil-CoA se transforma en 2,3-trans-enoil-CoA y peróxido de hidrógeno y posteriormente, en presencia de la peroxidasa (POD) y por la acción conjunta de la 3-metil-N-etil-N-(β-hidroxietilo)-anilina (MEHA) y la 4-aminoantipirina (4-AA), se obtiene un complejo cromático azul-violeta por acoplamientos oxidativos.
Leyendo la absorción azul-violeta se puede determinar la concentración de NEFA.

Reacción

$$RCOOH + ATP + CoA \xrightarrow{ACS} acil\text{-}CoA + AMP + Ppi$$

$$acil\text{-}CoA + O_2 \xrightarrow{ACOD} 2,3\text{-}trans\text{-}enoil\text{-}CoA + H_2O_2$$

$2H_2O_2$ + 4-aminoantipirina + MEHA

4-aminoantipirina

MEHA

$\xrightarrow{POD}$ complejo cromático violeta + OH^- + $3H_2O$

complejo cromático violeta

Indicios físicos y químicos de inestabilidad

Son indicios de inestabilidad del reactivo la presencia de precipitaciones o la obtención de resultados de los controles fuera del margen indicado por el fabricante.

Aparatos

El reactivo está previsto para su uso en cualquier analizador automático existente en el mercado. Revisar el manual del fabricante para una descripción del manejo y especificación del analizador. Es indispensable que el usuario haga una validación práctica del test analizando un número suficiente de sueros de pacientes de apropiados controles.

Reactivos

Contenido y condiciones de conservación

R1 Set:	R1a:	Reactivo colorimetrico A	Conservar a 2 - 10°C
	R1:	Solución A	
R2 Set:	R2a:	Reactivo colorimetrico B	Conservar a 2 - 10°C
	R2:	Solución B	

Componentes

R1 Set:		
R1a:	*(tras su reconstitución)*	
Reactivo	ACS	0,53 U/ml
colorimétrico A	CoA	0,31 mmol/l
	ATP	4,3 mmol/l
	4-AA	1,5 mmol/l
	AOD	2,6 U/ml
	Acida sódica	0,055% (como R1)
	(Reactivo colormetrico liofilizado)	(0,8%)
R1: Solución A	Tampón fosfato, pH 7,0	50 mmol/l
	Acida sódica	0,05%
R2 Set:		
R2a:	*(tras su reconstitución)*	
Reactivo	ACOD	12 U/ml
colorimétrico B	POD	14 U/ml
R2: Solución B	MEHA	2,4 mmol/l

Preparación de los reactivos

R 1: Mezclar bien el contenido de un frasco del reactivo colorimétrico A (R1a) con la solución A (R1). Conservar la solución de uso a 2 - 10 °C y usarla antes que transcurran 10 días de su preparación.

R 2: Mezclar bien el contenido de un frasco del reactivo colorimétrico B (R2a) con la solución B (R2). Conservar la solución de uso a 2 - 10 °C y usarla antes que transcurran 3 semanas de su preparación.

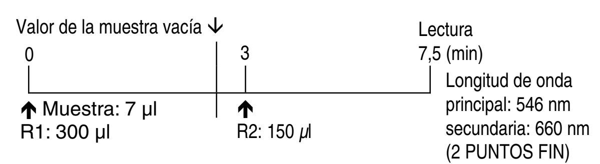
Obtención y conservación de las muestras

Utilizar muestras séricas en el análisis.
Se recomienda realizar el análisis inmediatamente después de haber obtenido la muestras de sangre, ya que enzimas como la lipoprotein-lipasa y fosfolipasa hidrolizan las grasas formándose ácidos grasos. Congelar los sueros en caso de retardar su análisis. Estabilidad en suero no congelado: 2 días a 4°C[1].

La heparina estimula la lipoprotein-lipasa, auméntandose la tasa de ácidos grasos libres en personas con terapia con heparina. La sangre de estos pacientes sólo puede analizarse tras un tratamiento previo[2].

Procedimiento standard

Temperatura 37°C (Hitachi®737)



Calibrador: Wako NEFA Standard (suministrable aparte)

Cálculo de la concentración de NEFA

La concentración de NEFA se determina mediante una curva de calibración.

Uso en varios analizadores automáticos

Programe los parámetros siguiendo las instrucciones de uso del fabricante del aparato.
Bajo pedido, pueden suministrarse aplicaciones para ciertos analizadores automáticos.

Resultados

Los resultados finales se calculan automáticamente mEq/l.
Utilizar siempre la misma unidad para el calibrador.

Valores de referencia[3]

Hombres: 0,1 - 0,60 mmol/l (2,8 - 16,9 mg/dl)
Mujeres: 0,1 - 0,45 mmol/l (2,8 - 12,7 mg/dl)

Se recomienda que cada laboratorio determine sus propios valores de referencia al ser una determinación intrínsecamente relacionada con la edad, sexo, alimentación y país.

Fabricado por:

Wako Chemicals GmbH
Fuggerstraße 12, D-41468 Neuss
Telephon(e): +49-2131-311-0
Facsimile: +49-2131-311-100
URL: www.wako-chemicals.de



NEFA-HR(2)



Método ACS-ACOD

Para el análisis cuantitativo de los Ácidos Grasos Libres (NEFA) en Suero

Datos característicos del test

(1) **Exactitud**
Los resultados de los controles séricos admite una variabilidad en sus resultados del ± 15% de la concentración indicada por su fabricante.

(2) **Sensibilidad**
a) La absorción del agua destilada no debe superar las 0,140 UAbs.
b) Si el estándar usado es ácido oleico (1 mEq/l) la variabilidad será de 0,100 a 0,380 UAbs.

(3) **Precisión**
El CV no debe superar el 1,5% si se analiza 5 ó más veces una muestra en el mismo procesamiento.

(4) **Límites de linearidad**
0,01 - 4,00 mEq/l NEFA (siguiendo los procedimientos estándar).

Correlación

Material de muestras	Suero
Coeficiente de correlación	r = 0,997 (n = 50)
Valor de regresión	y = 1,013 x – 0,043
y	Wako NEFA-HR(2) (Método ACS - ACOD, mEq/l)
x	Wako NEFA C (Método ACS - ACOD, mEq/l)

Interferencias

a) La bilirrubina puede originar una ligera reducción de los valores.
b) No existe influencia importante ni por el ácido ascórbico ni por la hemólisis.
c) En concentraciones normales, no existen interferencias debidas al citrato, oxalato, EDTA o fluoruro sódico.

Avisos y medidas de precaución

- Sólo para aplicaciones *in-vitro.*
- Sólo personal profesional especializado puede usar este test. Rigen las prescripciones y leyes nacionales y regionales respectivas.
- No debe usarse *in-vivo* ni en humanos ni en animales.
- Los reactivos deben usarse exclusivamente para el procedimiento aquí descrito. No se puede garantizar eficacia alguna si se usan los reactivos en otros procedimientos o para otros fines.
- ¡Para el manejo del aparato tenga en cuenta el manual de instrucciones del fabricante!
- Los reactivos deben conservarse según las condiciones indicadas. No use los reactivos una vez transcurrida la fecha de caducidad indicada en el envase.
- ¡No use reactivos congelados erróneamente!. Los reactivos congelados pueden obtener resultados incorrectos.
- No se recomienda conservar los reactivos ya reconstituidos. Tras abrir el envase, ciérrelo bien y guárdelo a la temperatura indicada.
- Use los recipientes y otros materiales sólo para el objeto descrito del test.
- Los frascos se han cerrado al vacío. Quite las tapas lentamente evitando la pérdida de liofilizado.
- Si se analiza en el mismo proceso NEFA, colesterol y/o triglicéridos, situar la técnica NEFA en primer lugar. Los enzimas colesterol esterasa y lipoprotein lipasa usados en la determinación de colesterol y triglicéridos, se adhieren a la cubeta y pueden influir en los resultados de NEFA.
- Use el estándar NEFA para la calibración.
- Este análisis no debe constituir la única prueba que permita establecer un diagnóstico clínico.
- ¡El reactivo no debe entrar en contacto con la boca, los ojos ni la piel! Lavar con abundante agua la piel o los ojos, si han entrado en contacto con el reactivo.
- ¡Precaución! No se corte con la tapa de aluminio al quitarla.
- En cuanto a la eliminación de los reactivos, hay que tener en cuenta las normativas regionales y nacionales. La solución contiene 3 mg/l ferricianuro potásico. (1 mg/l como cianógeno).
- Todos los materiales que entren en contacto con las muestras deben considerarse potencialmente infecciosos. El tratamiento de estos materiales debe efectuarse en concordancia con las reglas de una buena práctica de laboratorio y según las normativas nacionales e internacionales en vigor.
- La acida sódica puede formar mezclas explosivas con cobre o plomo. Aunque los reactivos contienen sólo cantidades mínimas de acida sódica, se deben enjuagar los desagües con abundante agua al eliminar los reactivos.
- Este kit (R1) contiene compuestos clasificados conforme a la Directiva 1999/ 45/ CE.

Clasificación de peligrosidad



Xn Nocivo para la salud

Frases R:
R 22 Nocivo para la salud al tragar el producto.
R 52/53 Dañino para organismos marinos, en aguas puede tener efectos perjudiciales a largo plazo.

Frases S:
S 28 Al entrar en contacto con la piel, lavar inmediatamente con abundante agua.
S 45 En caso de accidente o malestar, acudir a un médico (si fuera posible, enseñarle esta etiqueta).
S 60 Este producto y su envase tienen que eliminarse como desperdicios peligrosos.
S 61 Evite la liberación del producto al medio ambiente. Busque las instrucciones especiales / consulte la Hoja de Datos de Seguridad.

Control de la calidad

Se recomienda un programa de control de calidad para todos los laboratorios clínicos.

Bibliografía

1. Rogiers V, Stability of the long chain non-esterified fatty acid pattern in plasma and blood during different storage conditions. Clin Chim Acta. 84, 49 - 54 (1978).
2. Krebs, M. et al., Prevention of in Vitro Lipolysis by Tetrahydrolipstatin. Clin. Chem. 46 (7), 950 - 954 (2000).
3. Aufenanger, J. and Kattermann, R. Klinisch-chemische Meßgröße: Freie Fettsäuren (FFS), S. 319 - 320 in Greiling/Greßner: Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3. edition, Schattauer (1995).

Información para el pedido

Referencia	Producto	Presentación
434-91795	NEFA-HR(2) R1 Set	R1a: 4 para 50 ml R1: 4 x 50 ml
436-91995	NEFA-HR(2) R2 Set	R2a: 4 para 25 ml R2: 4 x 25 ml
270-77000	NEFA Standard	CAL: 2 x 10 ml

Fabricado por:

Wako Chemicals GmbH
Fuggerstraße 12, D-41468 Neuss
Telephon(e): +49-2131-311-0
Facsimile: +49-2131-311-100
URL: www.wako-chemicals.de